

Elaboración de biopelículas a base de mucílago de nopal y nanopartículas de plata

Biofilms based on nopal mucilage and silver nanoparticles

Adriana Barrón-Robledo¹, Danna Paola Calzada-Galván², Irepan David Castrejón-Guzmán³, María de Lourdes Reyes-Escogido⁴

^{1,2,3,4} Departamento de Medicina y Nutrición, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato, Campus León.
a.barronrobledo@ugto.mx¹, dp.calzadagalvan@ugto.mx², id.castrejonguzman@ugto.mx³, ml.reyes@ugto.mx⁴

Resumen

El mucílago es una sustancia producida por algunas plantas, entre ellas está el nopal, por otro lado, se ha demostrado que las nanopartículas de plata (AgNPs) presentan efecto antimicrobiano. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue elaborar biopelículas utilizando como soporte el mucílago adicionado de AgNPs y evaluar su actividad antibacteriana. Se evaluaron tres condiciones de la mezcla mucílago-AgNPs además de una condición Nopal-AgNPs. A las 4 se les agregó glicerol como plastificante y a una de las condiciones mucílago-AgNPs se le añadió urea. Las biopelículas obtenidas fueron caracterizadas y posteriormente se evaluó su actividad antimicrobiana contra *E. coli*. Los resultados muestran que las biopelículas obtenidas con AgNPs fueron de un color más oscuro comparadas con su respectivo control (mucílago o nopal sin AgNPs), además presentaron diferente grosor. Con respecto a la actividad antimicrobiana, las biopelículas Mucílago-AgNPs con urea y la de nopal-AgNPs redujeron el número de unidades formadoras de colonias (UFC), también comparados con su respectivo control, por lo que se puede concluir que las biopelículas mucílago-AgNPs y nopal-AgNPs presentan actividad antibacteriana.

Palabras clave: mucílago; nanopartículas de plata; biopelículas; actividad antimicrobiana.

Introducción

En los últimos años las infecciones bacterianas y el incremento en resistencia a los antibióticos ha sido motivo de preocupación. Debido a esto, muchas investigaciones se enfocan en la búsqueda y estudio de nuevos materiales con propiedades antimicrobianas lo cual se ha vuelto cada vez más importante. En este contexto, las AgNPs se han convertido en una solución prometedora gracias a sus propiedades antibacterianas (Díaz Acosta, 2018). Estas pueden ser sintetizadas mediante métodos físicos, químicos y biológicos. La síntesis biológica de AgNPs utiliza plantas o microorganismos, por lo cual se le considera un método amigable con el ambiente. La producción de AgNPs utilizando bacterias como *Lactobacillus* aprovecha las propiedades reductoras de los metabolitos producidos por estos organismos, siendo el único método que no causa toxicidad en los seres humanos además de tener un enfoque más ecológico y sostenible, por lo cual es el método que ha tomado mayor relevancia en la biomedicina (Esquivel-Figueroa et al., 2021; Díaz Acosta, 2018; Ledezma et al., 2014; Quintero-Quiroz et al., 2020).

De igual manera, el desarrollo de biopolímeros naturales como matrices de soporte para las AgNPs ha ampliado el desarrollo de oportunidades en la creación de materiales biodegradables con propiedades antibacterianas, siendo el mucílago de nopal uno de los materiales más empleados debido a sus propiedades y que son una fuente abundante de polisacáridos principalmente pectinas las cuales le brindan a la biopelícula propiedades únicas de biodegradabilidad, filmógenas, antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias, lo que las hace más versátiles para diversas aplicaciones. (Aruwa et al., 2019; Espino-Díaz et al., 2010; Llangari et al., 2022; González, 2011)

Por ello en el presente estudio, se sintetizaron nanopartículas de plata empleando *Lactobacillus plantarum* y se incorporaron a biopelículas elaboradas a partir de mucílago de nopal bajo distintas condiciones, y se evaluaron sus características físicas, así como su efectividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*.

Material y métodos

Síntesis de nanopartículas

La síntesis de las nanopartículas de plata se realizó utilizando la cepa de *Lactobacillus plantarum*. Para lo cual la bacteria se inoculó en medio MRS adicionado de Nitrato de plata a una concentración 1 mM. Se incubó 24 h a 37°C en aerobiosis, el cambio de color de amarillo a café oscuro es indicativo de la presencia de nanopartículas de plata. El cultivo se centrifugó para separar el paquete celular del medio, las células se lisaron mediante sonicado a una amplitud de 40%, en 5 ciclos de 1 min para liberar las nanopartículas adheridas a estas. El lisado se centrifugó y se recuperaron las nanopartículas de plata.

Síntesis y caracterización de biopelículas

Para elaborar las biopelículas se evaluaron 4 condiciones; 3 condiciones con mucílago de nopal y una utilizando nopal deshidratado.

A) Se pesaron 0.4 g de mucílago de nopal, los cuales se diluyeron con agitación continua en 10 ml de agua hasta una completa homogeneización. Posteriormente se agregaron 200 µl de glicerol y 500 µl de la suspensión de nanopartículas de plata, se continuó la agitación hasta homogeneización completa.

B) 0.2 gramos de mucílago de nopal se adicionaron a 5 ml de agua, se agregó 0.1 ml de glicerol y se mezclaron mediante agitador magnético hasta obtener una suspensión homogénea, posteriormente se adicionaron 5 ml de la suspensión de nanopartículas de plata continuando con la agitación magnética hasta homogeneización completa.

C) Se mezclaron 0.2 gramos de urea con 10 ml de agua desionizada, se mantuvo en agitación y calentamiento a 80°C por 30 minutos. Después de enfriar se agregaron 0.5 gramos de mucílago y se continuó la agitación durante 30 minutos más, posteriormente se agregaron 100 microlitros de glicerol y 5 ml AgNPs.

D) 0.8 g de nopal deshidratado se mezclaron con 10 ml de agua desionizada mediante agitación constante. Una vez homogénea la suspensión se adicionaron 0.2 ml de glicerol y 3 ml de la suspensión de nanopartículas de plata. La mezcla se mantuvo en agitación y calentamiento a 85°C durante 10 minutos.

Como control para comparación se prepararon las mismas suspensiones de mucílago o de nopal sin las nanopartículas de plata.

Para la formación de las biopelículas, todas las suspensiones se vaciaron a placas Petri ly se secaron a 40°C.

Se recuperaron las biopelículas formadas y se les evaluó el color utilizando un colorímetro (Linshang, Modelo: L5171) y el grosor utilizando un Vernier digital.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Se utilizó *E. coli* para evaluar la actividad antimicrobiana de las biopelículas. A partir de un cultivo de 24 h de *E. coli* se preparó una concentración de 1.5×10^8 UFC/ml de acuerdo con el tubo 0.5 de la escala McFarland.

Las biopelículas fueron rehidratadas con 10 ml de etanol al 70% para después desprenderlas de la placa Petri. Las biopelículas recuperadas se transfirieron a placas Petri estériles y se colocaron bajo luz ultravioleta por 20 minutos.

Las biopelículas fueron inoculadas con 1 ml de la suspensión de *E. coli* previamente preparada y se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Las placas fueron retiradas de la incubadora, se añadieron 10 ml de agua peptonada a cada una de las placas, se colocaron en agitación durante 10 minutos, se tomó 1 ml de la suspensión de la placa y se diluyó en 9 ml de agua peptonada, y así sucesivamente realizando la técnica de dilución seriada.

100 microlitros de las suspensiones diluidas se inocularon por extensión en placas de agar BHI las cuales fueron incubadas durante 24 h a 37°C. Después de la incubación se realizó el recuento de las colonias que crecieron en las placas, el crecimiento se reportó como UFC/ml.

Resultados y discusión

Caracterización de las biopelículas

Para evaluar el color de las biopelículas, se utilizó el espacio de color $L^*a^*b^*$, también conocido como CIELAB (tabla 1). Al comparar las biopelículas elaboradas con el mucílago con AgNPs (Condiciones A, B y C) con el control (mucílago sin AgNPs), se observa que las biopelículas elaboradas con las condiciones A y C son más oscuras ubicándose en el cuadrante verde y amarillo de la escala CIELAB comparado con el control. En la condición B, el resultado de Δa es positivo, lo que indica que esta condición está más cargada hacia el cuadrante rojo que el control. En el caso de la biopelícula de nopal con AgNPs comparado con su respectivo control, también fue más oscura que el control, ubicándose en el cuadrante rojo y amarillo. Por otro lado, se observó que todas las condiciones tienden a ser más luminosas, con excepción de la condición D que tiende a ser opaca. La tabla 1 presenta los valores de las diferencias entre las biopelículas con AgNPs y sus respectivos controles.

Tabla 1. Valores de las diferencias de los parámetros de color entre las biopelículas elaboradas a base de mucílago o nopal adicionadas de AgNPs y sus respectivos controles.

	ΔL	Δa	Δb	ΔE	ΔC
Control- Condición A	-2.734	-1.0127	1.56	3.30	0.19
Control- Condición B	-4.516	0.274	3.067	5.46	0.1
Control- Condición C	-3.03	-0.153	1.574	3.41	0.09
Control- Condición D	-3.05	0.27	1.17	3.27	-0.01

Como puede observarse, la presencia de nanopartículas de plata oscurece las biopelículas, provocando que en todos los casos ΔL sea negativo. La solución oscura indica la presencia de AgNPs debido a la reducción de los iones de plata.

El grosor de las películas del control fue de 0.19 mm mientras que para las condiciones A, B y C fue de 0.10 mm, 0.40 mm y 0.18 mm respectivamente. Con lo cual podríamos deducir que la presencia de las nanopartículas de plata para las condiciones A y B, pueden influir en el grosor, mientras que en la condición C el grosor fue similar al del control por lo que posiblemente la urea juegue un papel en este comportamiento.

Efecto antimicrobiano de las biopelículas con AgNPs

Para evaluar el efecto inhibitorio se utilizó un aislado clínico de *E. coli*. Como se puede observar en la tabla 2, las biopelículas con AgNPs elaboradas a base de mucílago comparadas con el control, muestran una reducción en el número de UFC excepto para la condición A en la cual se presentó un incremento lo cual es coincide con que es la condición que menor cantidad de AgNPs contenía. La condición B disminuyó un

logaritmo y en la condición C y D no hubo crecimiento. Por lo que estas últimas condiciones serían las elegidas para la elaboración de biopelículas con efecto antibacteriano. Por otro lado, la biopelícula elaborada con nopal deshidratado adicionada de AgNPs también inhibió el crecimiento microbiano, comparado con el control, por lo que el nopal deshidratado también puede ser una alternativa para la elaboración de las biopelículas. Es importante considerar que esta es una estrategia para elaborar materiales antibacterianos, biodegradables, y amigables con el ambiente ya que no se utilizan materiales químicos, la síntesis de las AgNPs es biológica y por tanto no se generan residuos químicos, por otro lado, las biopelículas se degradan fácilmente sin generar residuos tóxicos.

Tabla 2. Crecimiento microbiano (UFC/ml) observado en cada condición.

Condición	UFC/mL
Mucilago Control	7.9 x 10 ⁴
Mucilago Condición A	2.5 x 10 ⁶
Mucilago Condición B	6 x 10 ³
Mucilago Condición C	NC
Nopal control	6.6 x 10 ⁴
Nopal Condición D	NC

Conclusiones

En este estudio, se evaluó la efectividad antimicrobiana de biopelículas de mucilago de nopal y nopal deshidratado combinadas con nanopartículas de plata (AgNPs) sintetizadas por *Lactobacillus plantarum*. Los resultados mostraron que la presencia de AgNPs oscurece las biopelículas y afecta su grosor. En cuanto a la actividad antimicrobiana, las biopelículas con AgNPs, especialmente las de la condición C y el nopal deshidratado (condición D), demostraron una reducción significativa en el crecimiento de *E. coli*. Estos hallazgos sugieren que las biopelículas con AgNPs tienen un gran potencial como materiales antibacterianos biodegradables, ofreciendo una solución ecológica y sostenible para combatir infecciones bacterianas.

Referencias

- Aruwa, C., Amoo, S., & Kudanga, T. (2019). Extractable and macromolecular antioxidants of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial activities. *South African Journal Of Botany*, 125, 402-410. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.007>
- Espino-Díaz, M., De Jesús Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M. A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G. V., Zamudio-Flores, P. B., & Olivas, G. I. (2010). Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal Of Food Science*, 75(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01661.x>
- Esquivel-Figueroa, Rosalia de la Caridad, & Mas-Diego, Siannah María. (2021). Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*. *Revista Cubana de Química*, 33(2), 23-45. Epub 26 de abril de 2021. Recuperado en 24 de julio de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212021000200023&lng=es&tlng=es.
- Díaz Acosta, E. M. (2018). Nanopartículas de plata: síntesis y funcionalización. Una breve revisión. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias Y Nanotecnología*, 12(22), 89-99. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.22.60758>

- Ledezma, A., Romero, J., Hernández, M., Moggio, I., Arias, E., Padrón, G., Orozco, V., Martínez, A., Martínez, C., & Torres, S.. (2014). Síntesis biomimética de nanopartículas de plata utilizando extracto acuoso de nopal (*Opuntia sp.*) y su electrohilado polimérico. *Superficies y vacío*, 27(4), 133-140. Epub 00 de diciembre de 2014. Recuperado en 24 de julio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-35212014000400133&lng=es&tlng=es.
- Llangari, K. G. S., Lara, A. E. E., Bastidas, B. A. O., & Jaramillo, E. A. V. (2022). Obtención de películas bioplásticas a partir del mucílago del Nopal (*Opuntia ficus-indica*) proveniente de la estación experimental Tunshi, Chimborazo. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9227621>
- Quintero-Quiroz, C., Botero, L. E., Zárate-Triviño, D., Acevedo-Yepes, N., Escobar, J. S., Pérez, V. Z., & Cruz Riano, L. J. (2020). Synthesis and characterization of a silver nanoparticle-containing polymer composite with antimicrobial abilities for application in prosthetic and orthotic devices. *Biomaterials research*, 24, 13. <https://doi.org/10.1186/s40824-020-00191-6>
- González, L. R. G. (2011). Desarrollo y evaluación de una película comestible obtenida del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) utilizada para reducir la tasa de respiración de nopal verdura. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4106660>